ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ

ПРАКТИКУМ

ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Для студентов 1 курса УГМА

Екатеринбург

2016

УДК 546:376.14

«Практикум по органической химии» для студентов I курса педиатрического факультета УГМА./Под редакцией д.т.н. Белоконовой Н.А.-Екатеринбург: УГМА, 2016

Биоорганическая химия – фундаментальный раздел, входящий в соответствии с ФГОС в учебный план по дисциплине «Химия» для студентов лечебно-профилактического, педиатрического, медико-профилактического, стоматологического факультетов. Курс химии позволяет создать концептуальную и деятельностную основу высокого качества как главного фактора подготовки студентов для успешной профессиональной деятельности врача.

«Практикум по биоорганической химии» входит в единый комплекс методических пособий по химии, подготовленных на кафедре общей химии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. Содержит упражнения для самостоятельной работы при подготовке к занятиям по курсу биоорганической химии. Практикум построен следующим образом: вводная часть, перечень вопросов данного раздела курса для самостоятельного разбора материала (контрольные вопросы), лабораторные работы с описанием опытов, необходимые выводы для самостоятельного осмысления наблюдаемых явлений. В качестве дополнения в пособие включены правила техники безопасности.

Составители: Е.Ю. Ермишина, Р.П. Лелекова, С.Г.Перевалов, Н.С. Клубникина, Н.М.Дорофеева, Н.А. Наронова.

Ответственный редактор – д.т.н. Белоконова Н.А.

Рецензент – профессор, д.х.н. Тхай В.Д..

Требования, предъявляемые кафедрой к студенту

1. Студент **должен соблюдать правила техники безопасности** в аудиториях кафедры, выполнять правила внутреннего распорядка ГБОУ ВПО УГМА
2. На лабораторных занятиях студент должен быть в халате, иметь рабочую тетрадь.
3. Пропущенные занятия должны быть отработаны в течение **2-х недель после пропуска.** Студент, не отработавший в течение 2-х недель пропущенные лабораторные занятия, к последующим занятиям, итоговым занятиям и зачету не допускается.
4. Во время работы в учебном практикуме необходимо соблюдать дисциплину и порядок, за поддержание которых отвечает дежурный по группе и староста группы.
5. Запрещается вносить в учебный практикум верхнюю одежду.
6. Каждый студент должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое рабочее место без разрешения преподавателя не допускается.
7. Запрещается принимать пищу в учебном практикуме.
8. Рабочее место следует содержать в чистоте и порядке, не загромождая его посторонними предметами.
9. В учебной аудитории запрещается выполнение любых экспериментальных работ, не связанных с выполнением учебного задания.
10. Запрещается выполнять лабораторные опыты в отсутствие преподавателя.
11. По окончании работы необходимо: вымыть химическую посуду, навести порядок на рабочем месте, выключить светильники.
12. Все вопросы по технике безопасности, возникшие в процессе работы, следует немедленно выяснять у преподавателя или лаборанта.

С требованиями кафедры ознакомлен(а) _______________20__ г.

____
(подпись)

Лабораторная работа №5. «Карбоновые кислоты, гидрокси-, оксо- кислоты»

Карбоновые кислоты -органические соединения, содержащие одну или несколько карбоксильных групп —COOH. В живых организмах обнаружены карбоновые кислоты алифатического (жирные кислоты), ароматического (бензойная, салициловая) и гетероциклического (никотиновая) рядов. По числу карбоксильных групп различают монокарбоновые (жирные кислоты), дикарбоновые (малоновая, фумаровая, щавелевая, янтарная), трикарбоновые (изолимонная, лимонная) и поликарбоновые кислоты. Карбоновые кислоты могут быть насыщенными (предельными) и ненасыщенными (непредельными). Карбоновые кислоты играют важную роль в обмене веществ, являясь продуктами превращения углеводов, белков, жиров и других соединений. При физиологических значениях pH в клетках карбоновые кислоты находятся в основном в виде солей. В большом количестве в организмах встречаются эфиры карбоновых кислот (липиды, ацетилхолин и др.). Важное место в обмене веществ занимают активированные производные карбоновых кислот, например, тиоэфиры карбоновых кислот с коферментом А (ацетилКоА, ацил-КоА). К другим производным карбоновых кислот относятся гидроксикислоты, имеющие одну или несколько гидроксильных групп (—OH), кетокислоты, содержащие кетогруппу (>C=O) (альфа-кетоглутаровая, пировиноградная, щавелевоуксусная), аминокислоты, амиды карбоновых кислот (никотинамид, аспарагин, глутамин).

Цель занятия: сформировать знания биологической роли и реакционной способности карбоновых кислот и их функциональных производных. Сформировать знания реакционной способности гидрокси- и оксокислот с учетом взаимного влияния функциональных групп, умения прогнозировать химические свойства гетерофункциональных соединений.

Контрольные вопросы

1.Сравните кислотные свойства этановой и этандиовой кислот. Напишите уравнения реакций образования солей с $Ca(OH)_2$.

2.Напишите уравнения реакций декарбоксилирования малоновой и 2-аминопентандиовой кислот.

3.Напишите уравнения реакций получения функциональных производных карбоновых кислот: изопропилового эфира пропановой кислоты, амида бутановой кислоты; ацетил-КоА и малонил-КоА.

4.Напишите схему реакции гидролиза этилацетата в кислой среде.

5.Напишите схему реакции гидролиза метилпропионата в щелочной среде.

6.Напишите схемы реакций окисления молочной и яблочной кислот *in vivo*, назовите продукты.

7.Напишите таутомерные формы пировиноградной кислоты (ПВК). Приведите уравнение реакции ПВК (в енольной форме) с АТФ с образованием фосфоенолпирувата (ФЕП).

8.Приведите схему реакции восстановления ПВК *in vivo*.

ОПЫТ 1. Качественная реакция α-гидроксикислот с хлоридом железа (III) (качественная реакция на молочную кислоту).

В две пробирки налейте по 0,5мл раствора хлорида железа (III) и добавьте такое же количество раствора фенола; появляется характерное окрашивание. В одну пробирку прибавьте 0,5мл молочной кислоты, в другую для сравнения – уксусной. Отметьте изменение окраски растворов, результаты наблюдений запишите в таблицу .

Таблица 1.

Опыт	*Цвет раствора*	*Уравнение реакции*
фенол + $FeCl_3$		
молочная кислота+комплекс железа с фенолом		
уксусная кислота+комплекс железа с фенолом		

Выводы

1. Запишите в таблицу 1 уравнения протекающих реакций и наблюдения, сделанные в опыте.

2.Сделайте вывод о силе кислот. Расположите фенол, молочную, уксусную кислоты в ряд по увеличению кислотных свойств.

ОПЫТ 2. Открытие щавелевой кислоты в виде кальциевой соли.

В пробирку налейте 1 мл раствора оксалата натрия, затем добавьте в раствор 0,5мл раствора хлорида кальция. Что при этом наблюдаете? С кристаллами оксалата кальция можно встретиться при клиническом исследовании мочи, они имеют форму почтовых конвертов и хорошо видны под микроскопом.

Выводы

1.Запишите уравнения образования оксалата кальция и цвет выпавшего осадка.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №6. «АМИНОКИСЛОТЫ. БЕЛКИ.»

Аминокислоты – органические соединения, содержащие в молекулах не менее 1 карбоксильной (COOH) и не менее 1 амино (NH_2) группы, очень разнообразные по происхождению, строению и физико-химическим свойствам.

Природные аминокислоты (около 300) входят в состав пептидов и белков и выполняют в живых организмах ряд метаболических функций. Выделяют 21 аминокислоту, кодируемую генетическим кодом и модифицированные аминокислоты.

Аминокислоты, кодируемые генетическим кодом, подразделяются на незаменимые (валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, фенилаланин, триптофан, лизин), незаменимые у детей (аргинин и гистидин) и заменимые (глицин, аланин, аспарагин, глутамин, пролин, серин, тирозин, цистеин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты).

Заменимые аминокислоты синтезируются в организме человека из безазотистых продуктов метаболизма и других аминокислот, в том числе незаменимых. Незаменимые аминокислоты не синтезируются в организме, но необходимы для нормальной жизнедеятельности. Они должны поступать в организм с белковой пищей.

Белки (протеины) и пептиды построены из остатков природных аминокислот и по своему значению и биологическим функциям они занимают среди биоорганических соединений особое место. Они имеют сложное строение и являются наиболее разнообразными по составу, строению, свойствам, функциям из биоорганических веществ. Белки – обязательная составная часть всех живых клеток. Белки – это биополимеры, макромолекулы которых состоят из остатков аминокислот, последовательно соединенных между собой амидной (пептидной) связью. Последовательность аминокислотных остатков называют **первичной структурой белка**. Природа пептидной связи позволяет белкам иметь энергетически устойчивую **вторичную структуру**, стабилизированную внутримолекулярными водородными связями между пептидными группами молекулы белка. Вторичные валентные (дисульфидные мостики между тиольными группами остатков цистеина белковых молекул) и невалентные (водородные связи, ион-дипольные, диполь-дипольные и дисперсионные) взаимодействия внутри белковых молекул и их гидратация в водной среде создают устойчивую **третичную структуру**, а отдельные третичные структуры создают **четвертичные структуры**; которые в свою очередь способны к образованию устойчивых **супрамолекулярных соединений** («молекулярных машин»). Именно пространственная структура белков и их супрамолекулярных соединений определяет химические и биологические свойства белков in vitro и in vivo. Вещества белковой природы (состоящие из остатков аминокислот, соединенных между собой пептидной связью), имеющие относительно меньшую молекулярную массу называются полипептидами. Четкой границы между белками и полипептидами не существует.

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: сформировать знания стереохимического строения и реакционной способности аминокислот как гетерофункциональных соединений, являющихся структурными компонентами пептидов и белков и уровней пространственной организации пептидов и белков во взаимосвязи с их биологическими функциями; выработать умение проводить качественные реакции на белки.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Постройте проекционные формулы Фишера энантиомеров L-фенилаланина; L-метионина.
2. Напишите схемы реакций декарбоксилирования L-серина, L-глутаминовой кислоты, L-гистидина, L-цистеина. Укажите необходимый кофермент. Назовите полученные биогенные амины.

3. Напишите схему реакции окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты *in vivo*. Укажите необходимый кофермент.

4. Напишите уравнение реакции трансаминирования L-аланина и α-кетоглутаровой кислоты. Укажите необходимый кофермент.

5 .Перечислите важнейшие биологические функции аминокислот в организме человека.

6. Приведите уравнения реакции образования дипептидов ала-мет, асп-фен. Рассчитайте область изоэлектрической точки pI этих дипептидов. В виде каких ионов и с каким зарядом данные дипептиды будут находиться при физиологическом значении pH крови (7,4)? Запишите ионные формы указанных пептидов. Выделите пептидные связи.

7. Запишите структурную формулу трипептида глутатиона (γ-глу-цис-гли) и схему реакции его окисления пероксидом водорода (H_2O_2). Какая функциональная группа трипептида окисляется? В какую группу она превращается?

8. Какие продукты образуются при полном гидролизе трипептида аспартилгистидиллизина в присутствии соляной кислоты? Напишите уравнение реакции.

ОПЫТ 1. Биуретовая реакция на пептидную связь.

В пробирку налейте 1-2 мл раствора гидроксида натрия, добавьте несколько капель раствора сульфата меди (II) – образуется осадок. Добавьте 1-2 мл раствора яичного белка, перемешайте встряхиванием до растворения осадка.

Выводы.

1. Запишите цвет образовавшегося раствора. Чем он обусловлен? Почему эта реакция называется биуретовой?
2. Все ли белки дают биуретовую реакцию?

ОПЫТ 2. Ксантопротеиновая реакция.

В пробирку налейте 1-2 мл раствора яичного белка и 0,5 мл концентрированной азотной кислоты. Что наблюдается? Что произошло с белком? **Осторожно нагревайте пробирку на пламени спиртовки, не доводить до кипения**! Что наблюдается? Охладите пробирку и добавьте 1-2 мл раствора гидроксида натрия (избыток). Что наблюдается?

Выводы

1. Какой процесс произошел после добавления концентрированной азотной кислоты?
2. Данная реакция позволяет установить наличие в белке ароматических аминокислот. Назовите эти аминокислоты?
3. Напишите схему реакции тирозинового остатка белка с азотной кислотой.

Лабораторная работа №7. «Углеводы. Моносахариды»

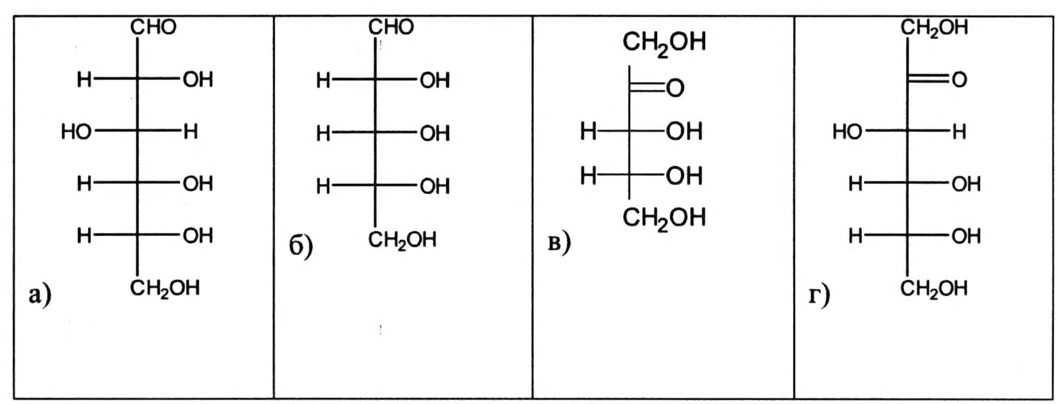
Углеводы наряду с белками и липидами являются важнейшими химическими соединениями, входящими в состав живых организмов. У человека и животных углеводы выполняют важнейшие функции: 1) энергетическую (главный вид клеточного топлива); 2) структурную (обязательный компонент большинства внутриклеточных структур); 3) защитную (участие углеводных компонентов иммуноглобулинов в поддержании иммунитета); 4) рецепторную (олигосахаридные фрагменты гликопротеинов) и другие. Углеводы (рибоза, дезоксирибоза) используются для синтеза нуклеиновых кислот, они являются составными компонентами нуклеотидных коферментов, играющих исключительно важную роль в метаболизме живых существ. В последнее время все большее внимание к себе привлекают смешанные биополимеры, содержащие углеводы: гликопротеины, гликолипиды и липополисахариды, гликолипопротеины и т.д. Эти вещества выполняют в организме сложные и важные функции.

С нарушением обмена углеводов тесно связан ряд заболеваний: сахарный диабет, галактоземия, гликогеновые болезни, непереносимость молока и др. Следует отметить, что в организме человека и животного углеводы присутствуют в меньшем количестве (не более 5% от сухой массы тела), чем белки и липиды. В растительных организмах за счет целлюлозы на долю углеводов приходится до 80% от сухой массы, поэтому в целом в биосфере углеводов больше, чем всех других органических соединений вместе взятых.

Цель занятия: сформировать знания стереохимического строения, таутомерии, важнейших химических свойств моносахаридов как основу для понимания их метаболических превращений и для изучения структурной организации полисахаридов.

Контрольные вопросы

1. Назовите и отнесите моносахариды к определенной группе, в соответствии с природой карбонильной группы и длиной углеродной цепи:



2. Напишите схему таутомерных превращений, происходящих при растворении в воде α-D-глюкопиранозы и назовите все таутомерные формы.

3. Напишите формулы β-D-рибофуранозы и β-D-дезоксирибофуранозы в виде проекций Хеуорса.

4. Напишите уравнение реакции взаимодействия β-D-галактопиранозы с этанолом в присутствии HCl.

5.Напишите уравнения реакций.

а) образования глюкуроновой кислоты из глюкозы.

б) образования маннионовой кислоты из маннозы.

в) образования галактаровой кислоты из галактозы.

г) образования D-глюкозо-6-фосфата из глюкозы в виде проекций Хеуорса.

д) образования D-фруктозо-1,6-дифосфата из D-фруктозо-6-фосфата в виде проекций Хеуорса.

ОПЫТ 1. Доказательство наличия гидроксильных групп в глюкозе.

Поместите в пробирку 5 капель 10% раствора гидроксида натрия и 2-5 капель 0,5% раствора глюкозы. К полученной смеси добавьте 2-5 каплель 2% раствора сульфата меди (II) Образующийся вначале осадок гидроксида меди (II) быстро растворяется.

Выводы.

1. Какого цвета раствор образуется при растворении осадка гидроксида меди (II)?
2. Какой структурный фрагмент глюкозы обусловливает участие в растворении осадка?
3. Напишите схему реакции образования комплексной соли иона Cu^{2+} с диольным фрагментом глюкозы:
4. Как называется реактив, используемый в опыте (соли меди в щелочной среде без нагревания)?

ОПЫТ 2. Доказательство наличия альдегидной группы в глюкозе.

Поместите в пробирку 1 мл раствора Фелинга и добавьте 1 мл 0,5% раствора глюкозы. Держа пробирку наклонно, осторожно нагрейте раствор до кипения. Наблюдайте происходящие изменения.

Выводы.

1. Какой структурный фрагмент глюкозы обусловливает участие в данной реакции?
2. Напишите схему реакции, назовите продукты реакции и укажите цвет образовавшегося осадка.
3. Укажите состав реактива Фелинга и условия протекания реакции на наличие альдегидной группы.
4. Какие свойства (восстановительные/ окислительные) проявляет глюкоза в данной реакции?
5. Какая таутомерная форма глюкозы обладает данными свойствами?

ОПЫТ 3. Взаимодействие фруктозы с реактивом Фелинга.

Поместите в пробирку 1 мл раствора Фелинга и добавьте 1 мл 0,5% раствора фруктозы. Держа пробирку наклонно, осторожно нагрейте раствор до кипения. Наблюдайте происходящие изменения.

Выводы

1.Объясните, почему фруктозу нельзя отличить от глюкозы реакцией с реактивом Фелинга.

ОПЫТ 4. Реакция Селиванова на фруктозу

Поместите в пробирку 1 мл реактива Селиванова - смесь резорцина и концентрированной соляной кислоты. Добавьте 1 мл 0,5% раствора фруктозы и нагрейте раствор до кипения. Постепенно жидкость приобретает вишнево-красное окрашивание. Реакция обусловлена образованием нестойкого соединения – 5-гидроксиметилфурфурола.

```
            CH — CH
            ||      ||
HOH2C — C        C — C — H
            \    /       ||
              O          O
```

Под влиянием концентрированной соляной кислоты 5-гидроксиметилфурфурол конденсируется с резорцином, давая окрашенное соединение. Реакция Селиванова

характерна для фруктозы и для других кетогексоз. Она основана на том, что 5-гидроксиметилфурфурол образуется из кетоз легче, чем из альдоз, не требуя долгого кипячения. При длительном же кипячении и глюкоза может вызвать небольшое покраснение раствора.

Выводы

1. Запишите схему реакции, используя циклическую форму фруктозы.

Лабораторная работа №8. «Ди- и полисахариды»

Многие дисахариды – сахара, молекулы которых построены из двух остатков моносахаридов, связанных гликозидной связью являются важнейшими пищевыми веществами для человека (сахароза, лактоза, мальтоза, изомальтоза, трегалоза и др.), а также входят в состав лечебных средств (лактоза, мальтоза, сахароза). Полисахариды (гликаны) - высокомолекулярные углеводы - сахара, молекулы которых построены из большого количества моносахаридных остатков, связанных гликозидными связями и образующих неразветвленные (линейные) или разветвлённые цепи с молекулярной массой от нескольких тысяч до нескольких миллионов. В состав простейших полисахаридов входят остатки только одного типа моносахарида (гомополисахариды), более сложные полисахариды (гетерополисахариды) состоят из остатков двух или более типов моносахаридных остатков и могут быть построены из регулярно повторяющихся дисахаридных блоков. Гликоген у человека и животных, крахмал, инулин у растений — запасающиеся углеводные вещества - энергетический резерв живых организмов. Целлюлоза и гемицеллюлозы клеточной стенки растений, хитин беспозвоночных и грибов —структурные полисахариды. Гетерополисахариды (гликозаминогликаны – гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, дерматансульфаты, кератансульфаты и др.) – важнейшие структурные полисахариды всех типов соединительной ткани человека и животных. Гепарансульфаты входят в состав базальных мембран и поверхностных антигенов всех клеток человека и животных, гепарин – противосвертывающее вещество (антикоагулянт) крови. Липополисахариды бактерий и разнообразные гликопротеины поверхности животных клеток обеспечивают специфичность межклеточного взаимодействия и иммунологических реакций.

Практически все известные природные полисахариды и их многочисленные синтетические производные применяются в медицине или прямо как лечебные средства (гепарин, гиалуроновая кислота, ходроитинсульфаты, частично деполимеризованные декстраны и др.), или как вспомогательные вещества (крахмал, циклодекстрины, агар, пектины, хитин, хитозан, целлюлоза и ее эфиры и др.). Инулин применяется в клинической диагностике функционального состояния почек.

Цель занятия: сформировать знания принципов химического строения и основных химических свойств дисахаридов, гомо- и гетерополисахаридов во взаимосвязи с их биологическими функциями.

Контрольные вопросы

1. Напишите уравнения реакций гидролиза сахарозы, мальтозы, лактозы.
2. Приведите структурные формулы компонентов таутомерного равновесия в растворе мальтозы.
3. Приведите структурную формулу дисахаридного фрагмента амилозы, укажите тип гликозидной связи.
4. Приведите фрагмент структуры амилопектина (глиеогена). Укажите виды связей между моносахаридными звеньями.
5. Приведите структурную формулу дисахаридного фрагмента целлюлозы и укажите тип гликозидной связи.
6. Приведите структурные формулы дисахаридных фрагментов гиалуроновой кислоты и хондроитин-4-сульфата. Укажите все типы гликозидных связей. Опишите структурное сходство и различие этих гетерополисахаридов.
7. Опишите применение полисахаридов в лечебных целях на примерах декстранов, целлюлозы и гепарина.

ОПЫТ 1. Отсутствие восстановительной способности у сахарозы

В пробирку поместите 10 капель раствора сахарозы и 3 капли реактива Фелинга. Осторожно нагрейте пробирку над пламенем спиртовки. Что наблюдается?

Выводы

1.Зарисуйте структурную формулу сахарозы
2.Объясните, почему сахароза не обладает восстановительными свойствами.

ОПЫТ 2. Обнаружение лактозы в молоке

В пробирку налейте 2-3 мл молока, добавьте 10-12 капель уксусной кислоты для денатурации белка. Отфильтруйте жидкую сыворотку и к ней добавьте 5-10 капель раствора NaOH и 1-2 мл реактива Фелинга. Осторожно нагрейте раствор над пламенем спиртовки. Какие изменения наблюдаются?

Выводы.

1. Какой дисахарид является компонентом сыворотки молока. К каким дисахаридам он относится?
2. Какова причина наличия восстановительных свойств у данного дисахарида?
3. Какой из моносахаридных остатков в молекуле этого дисахарида способен к цикло-оксо-таутомерии?
4. Напишите уравнение реакции взаимодействия окисления данного дисахарида с образованием лактобионовой кислоты.

ОПЫТ 3. Качественная реакция на крахмал

В пробирку поместите 1-2 мл коллоидного раствора крахмала и 1-2 капли раствора йода в йодиде калия. Появляется характерное интенсивное сине-фиолетовое окрашивание (йодкрахмальная реакция). Нагрейте пробирку, при этом происходит обесцвечивание ее содержимого. При охлаждении пробирки под струей воды окрашивание появляется вновь.

Выводы.

1. Укажите причину появления окраски раствора крахмала при добавлении йода.
2. Какая фракция крахмала обеспечивает появление этого окрашивания.
3. Зарисуйте схематически расположение молекул I_2 в структуре этой фракции
4. Что является причиной исчезновения окрашивания при нагревании?

Список литературы.

Основная:
1. Н. А. Тюкавкина. Биоорганическая химия. М., Дрофа, 2014.
2. В. А. Попков. Общая и биоорганическая химия. М., Академия, 2011.

Дополнительная:
1. Под ред. Н. А. Тюкавкиной. Органическая химия. Книга 1. Основной курс. М., Дрофа, 2008.
2. Под ред. Н. А. Тюкавкиной. Органическая химия. Книга 2. Специальный курс. М., Дрофа, 2008.
3. И. И. Грандберг. Органическая химия. М., Дрофа, 2009.
4. И. И. Грандберг, Н. Л. Нам. Органическая химия. М., Юрайт, 2012.
5. Д. Хельвинкель. Систематическая номенклатура органических соединений. Пер. с англ. М., БИНОМ, 2012.
6. О. А. Реутов, А. Л. Курц, К. П. Бутин. Органическая химия. В 4-х частях. М., БИНОМ, 2007.
7. В.И.Слесарев. Химия. Основы химии живого. С-Пб., Химиздат.2000
8. Практикум по общей и биоорганической химии. Под ред. Проф. В.А.Попкова. М., ACADEMA, 2005.